



TITLE:

# HIV-1侵入機構の定量化 (第13回生物数学の理論とその応用: 連続および離散モデルのモデリングと解析)

AUTHOR(S):

柿添, 友輔; 中岡, 慎治; 岩見, 真吾

---

CITATION:

柿添, 友輔 ...[et al]. HIV-1侵入機構の定量化 (第13回生物数学の理論とその応用: 連続および離散モデルのモデリングと解析). 数理解析研究所講究録 2017, 2043: 81-86

ISSUE DATE:

2017-09

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/236960>

RIGHT:

## HIV-1 侵入機構の定量化

柿添 友輔<sup>1</sup>, 中岡 慎治<sup>2</sup>, 岩見 真吾<sup>2,3</sup>

Yusuke Kakizoe<sup>1</sup>, Shinji Nakaoka<sup>2</sup>, Shingo Iwami<sup>2,3</sup>

九州大学システム生命科学府<sup>1</sup>, 科学技術振興機構 さきがけ<sup>2</sup>

九州大学理学大学院理学研究院<sup>3</sup>

Systems Life Sciences, Graduate School of Kyushu University<sup>1</sup>,

JST PRESTO sakigake<sup>2</sup>

Department of Biology, Kyushu University<sup>3</sup>

### 1. はじめに

現在まで、ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) に対する薬剤は多数開発されており、多くのHIV-1陽性患者の治療に役立てられてきた<sup>1</sup>。その中でも、HIV-1の標的細胞への侵入を阻害するマラビロクは、日本で承認されている唯一の侵入阻害薬である。また、他の薬剤との作用機序が異なることから、既存の薬剤への耐性を持つHIV-1に対して有効であると期待されている<sup>2</sup>。しかしながら、マラビロクは薬剤投与計画において以下の困難を伴う。まず、マラビロクはCCR5指向性ウイルスに対して効果的である一方で、CXCR4指向性ウイルスに対して効果的でない事が知られている。また、マラビロクは1日に2度の服用を必要としており、アドヒアランスが困難である。以上の理由から、新規の有効な侵入阻害薬の開発が希求されており、HIV-1の標的細胞への侵入プロセスの解明が重要であると考えられている<sup>3,4</sup>。これまでの研究で、HIV-1の侵入機構は以下のプロセスを経ることが解明されている<sup>5</sup>。はじめに、標的細胞表面上のCD4受容体が、ウイルス粒子表面上の糖タンパクEnvと相互作用する。Envはgp120及びgp41で構成される三量体で、CD4と結合することにより侵入を促進している。この結合により、Envに形態学的な変異を引き起こし、gp120と補助受容体(CCR5/CXCR4)との相互作用が促進される。そして、gp41が細胞膜とウイルスの融合を促進し、最終的にウイルスコアが細胞内に侵入する。ここで、マラビロクは、標的細胞上のCCR5補助受容体を占有し、gp120が相互作用できないようにすることで、侵入阻害薬として機能している。新たなHIV-1侵入阻害薬を開発するためには、HIV-1の標的細胞への侵入過程に伴う、CCR5補助受容体のダイナミクスを定量的に理解する必要がある。本研究では、数理モデルによるウイルス感染実験データの解析により、HIV-1が標的細胞へ侵入する際に要するCCR5補助受容体数を推定した。

## 2. ウイルス感染実験

まず、ウイルス感染実験の概要に関して説明する。本実験は、共同研究者である中田浩智氏（熊本大学）により行われた。まず、CCR5 を全く発現しない標的細胞 U373 MAGI cell を準備する。その細胞に野生型 CCR5 を発現するベクターと変異型 CCR5 (G163R) を発現するベクターを導入する。変異型 CCR5 の導入量を調整する事で、標的細胞表面上の変異型 CCR5 の発現量を制御する事ができる。この様に作成した細胞をウェルに用意し、野生型の HIV-1<sub>JR-FL</sub> を接種させ、暫く培養する。最終的に感染した細胞の頻度を測定する。ここで、計測した感染頻度（相対感染力）は、全 CCR5 が野生型の標的細胞に、野生型の HIV-1<sub>JR-FL</sub> を接種させた場合の感染細胞頻度で正規化された値である。以上の実験を、細胞表面上に発現する変異型 CCR5 の密度を変え 23 回行った。本研究では、ウイルス侵入に寄与できない変異型 CCR5 補助受容体を"ウイルス侵入阻害薬が結合している CCR5 補助受容体"と考えている。

## 3. ウイルス侵入機構を考慮した数理モデル

ある gp120 三量体と相互作用する、1 つの CCR5 クラスタが機能的である確率 ( $\alpha_m$ ) は次式で表される：

$$\alpha_m = \sum_{i=m}^3 \binom{3}{i} (1-f)^i f^{N-i}. \quad (1)$$

式(1)の  $f, m$  はそれぞれ、標的細胞上の変異型 CCR5 の頻度、CCR5 クラスタが機能的であるために必要な野生型 CCR5 の最小値を示している。式(1)はクラスタが3個中  $m$  個以上の CCR5 が野生型であれば、そのクラスタが機能的である事を意味する。ここでは、1 クラスタ中の CCR5 の数を 3 個と固定しているが、最終的な結果は  $N$  個の場合においても変わらない事に注意しておく。式(1)では、ある CCR5 クラスタに関して機能的かどうかに着目したが、最終的に HIV-1 が標的細胞に侵入するためには、複数個の CCR5 クラスタと相互作用する必要がある。従って、その数を  $T$  個とおくと、最終的に HIV-1 が標的細胞に侵入する確率は次の様になる：

$$(\alpha_m)^T \quad (2)$$

このように、HIV-1 の侵入機構を記述し、ウイルス感染力を予測する数理モデルを構築した。

## 4. ウイルス感染実験データの解析

式(2)により、パラメータ  $m, T$  の値を決定する事で、相対感染力が計算できる。そこで、ウイルス感染実験のデータより、これらのパラメータ  $m, T$  を推定していく。ここ

で、 $m$ と $T$ は生物学的不確実性を持つため、分布していると仮定する。モンテカルロシミュレーションによる $m$ と $T$ の分布推定を以下に概要を説明する：まず、 $m$ と $T$ がそれぞれカテゴリカル分布と幾何分布に従うと仮定する。すなわち、

$$m \sim \text{Cat}(p_1, p_2) := \prod_{k=1}^3 p_k^{[m=k]}, \text{ for } k \in (1, 2, 3) \quad (3)$$

$$T \sim \text{Geo}(p_3) := p_3(1 - p_3)^{T-1}. \quad (4)$$

ここで、 $p_1, p_2, p_3$ は確率分布の形状を決定する超パラメータである。それぞれの確率分布からパラメータを1つ抽出し、式(2)に代入する事で、相対感染力を計算できる。そして、この様な計算を1000回繰り返し、相対感染力を平均する。以下の式(5)を最小化する事で、最終的に各々の確率分布を推定した(図1)：

$$SSR(p_1, p_2, p_3) = \sum_{i=1}^{23} (I_{\text{model}}(i) - I_{\text{data}}(i))^2. \quad (5)$$

式(5)は、実験データとモデル予測値との誤差を表しており、 $I_{\text{model}}(i), I_{\text{data}}(i)$ はそれぞれ、 $i$ 番目の実験データ、 $i$ 番目のモデル予測値である。実験データは全23回通して行っており、 $i \in [1, 23]$ である。式(5)を最小化する事で、最終的に各々の確率分布を推定した(図1)。

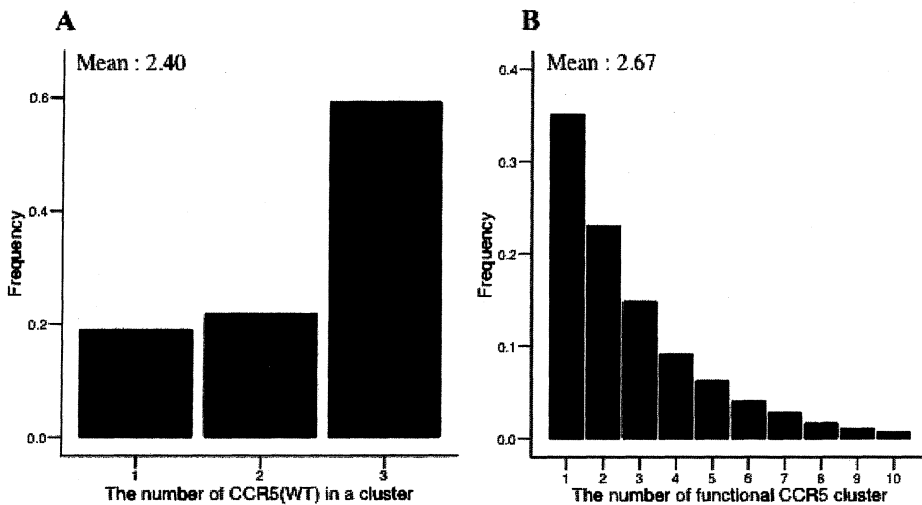


図1. 推定されたパラメータの分布

モンテカルロ法により推定された $m$ の分布(図1A)と $T$ の分布(図1B)を示している。1Aより、CCR5クラスターが機能的であるには、ほとんど全てのCCR5が野生型という事が分かる。また1Bより、およそ2-3個の機能的なCCR5がHIV-1侵入に関与している事が分かる。

図1Aより、 $m$ は平均値が2.4である事が分かる。これは、CCR5クラスターが機能的であるためには、ほぼ全てのCCR5が野生型である事を示唆する。図1Bより、 $T$ は

平均値が2.67という事が分かる。これは、HIV-1が侵入するためには、機能的なCCR5クラスターを2-3個必要としている事が分かる。また、推定された $m$ と $T$ の分布から、ブートストラップサンプリングにより $m \times T$ の分布を計算した(図2)。

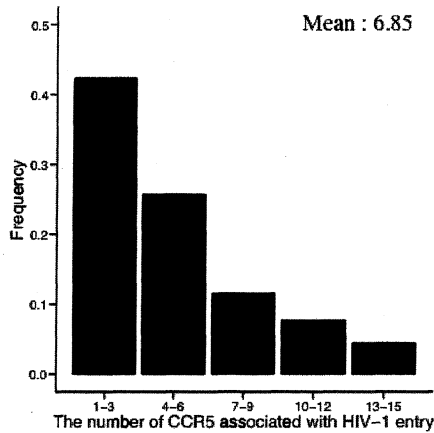


図2.  $m \times T$ の分布

ブートストラップ法により、 $m$ と $T$ の分布からそれぞれパラメータを抽出し、 $m \times T$ の分布を計算した。図より、HIV-1が侵入するためには、およそ6-7個の野生型のCCR5を必要としている事が分かる。

図2より、HIV-1は標的細胞に侵入する際に、平均して6-7個のCCR5を必要とする事が示唆された。これら解析結果の妥当性を検討するため、ウイルス感染実験データと式(2)より計算されるモデル予測値との比較を行った(図3)。

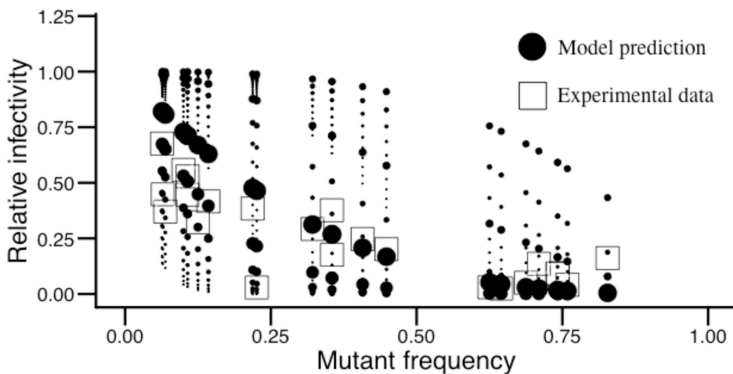


図3. 実験データとモデル予測値の比較

ウイルス感染実験データ(□)と式(2)より計算されるモデル予測値(●)との比較を行った。モデル予測値の計算には、 $m$ と $T$ の全ての組み合わせに関して計算し、頻度に応じて、大きさを変えてプロットした。図より、式(2)はうまく、ウイルス感染実験データを説明している事が分かる。

モデル予測値の計算には、 $m$ と $T$ の全ての組み合わせに関して計算し、頻度が大きい

ほど、大きくプロットした。図 3 より、数理モデルはウイルス感染実験データをうまく説明出来ている事が分かる。以上の様に、ウイルス感染実験データを、数理モデルを用いて解析する事で、HIV-1 侵入機構の定量的な解析を行った。

次に、式(2)を用いて、HIV-1 侵入阻害薬の評価も行った (図 4)。図 4 より、侵入阻害薬の占有率が 50%の時、HIV-1 の相対感染力は 25%以下である事が分かる。これは、侵入阻害薬が独立して機能するものではなく、共同して作用している事を示唆する。

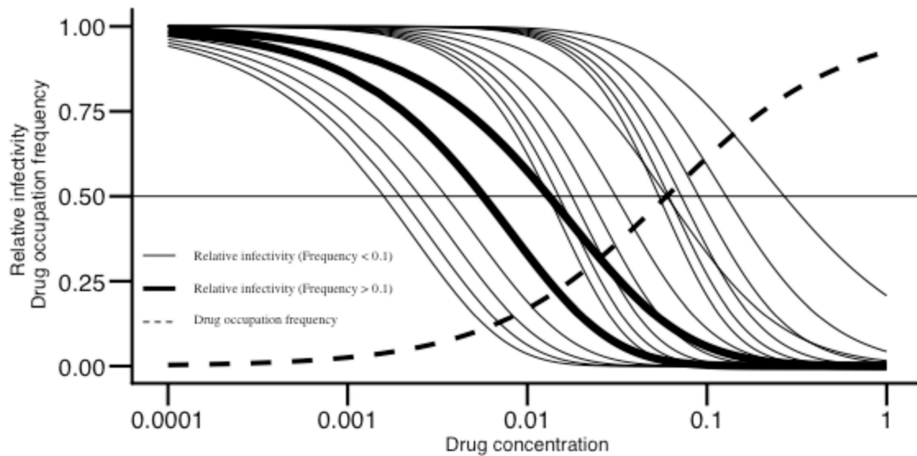


図 4. HIV-1 侵入阻害薬の評価

式(2)より HIV-1 侵入阻害薬の評価を行った。図中、実線は薬剤濃度に依存した相対感染力の変化を示しており、破線は薬剤濃度に依存した侵入阻害薬の CCR5 の占有率を示している。図より、50%の CCR5 が侵入阻害薬により占有される時、相対感染力は、25%以下である事が分かる。これは、侵入阻害薬が共同して機能している事を示唆する。

## 5.まとめと今後の展望

本研究では、数理モデルとウイルス感染実験データを用いる事で、HIV-1 の標的細胞への侵入機構を定量的に解析した。解析の結果、HIV-1 は、およそ 6-7 個の CCR5 を使用して侵入している事が示唆された。また、数理モデルを用いたシミュレーション結果から、CCR5 を標的とした侵入阻害薬は、独立して作用するのではなく、共同して作用する事を示唆した。以上の様に、数理モデルとウイルス感染実験データを用いる事で、抗ウイルス薬開発に関した定量的な知見を与える事ができた。今後の展望としては、主受容体である CD4 を考慮した数理モデルや他の補助受容体である CXCR4 補助受容体に関しての定量的解析を行い、本解析結果との比較の必要性などが上げられる。

## 6. 引用文献

1. Arts, EJ & Hazuda, DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor ...* (2012). doi:10.1101/cshperspect.a007161
2. Kuritzkes, D., Kar, S. & Kirkpatrick, P. Maraviroc. *Nature Reviews Drug Discovery* **7**, 15-16 (2008).
3. Magnus, C. & Regoes, R. Estimating the Stoichiometry of HIV Neutralization. *Plos Comput Biol* **6**, e1000713 (2010).
4. Magnus, C., Rusert, P., Bonhoeffer, S., Trkola, A. & Regoes, R. Estimating the Stoichiometry of Human Immunodeficiency Virus Entry. *Journal of Virology* **83**, 1523-1531 (2009).
5. Wilen, C., Tilton, J. & Doms, R. HIV: Cell Binding and Entry. *Cold Spring Harb Perspectives Medicine* **2**, a006866 (2012).